



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان

دانشکده داروسازی و علوم دارویی

پایان نامه دکترای عمومی داروسازی

عنوان:

بررسی اثر Early Handling بر رفتارهای شبه اضطرابی در موش‌های بزرگ
آزمایشگاهی در معرض قرار گرفته با والپروئیک اسید بصورت پیش و پس
از زایش

توسط:

ابوذر شفق

اساتید راهنما:

دکتر آزاده امین‌زاده

دکتر حمیده بشیری

استاد مشاور:

دکتر محمودرضا حیدری

شماره پایان‌نامه: ۱۱۹۶

تابستان ۱۳۹۹



**Kerman University of Medical Sciences
Faculty of Pharmacy**

Pharm. D Thesis

Title:

Investigating the effect of early handling on anxiety-like behaviors of rats exposed to valproic acid pre- and post-natally

By:

Abouzar Shafaghi

Supervisors:

Dr. Azadeh Aminzadeh

Dr. Hamideh Bashiri

Advisor:

Dr. Mahmoudreza Heydari

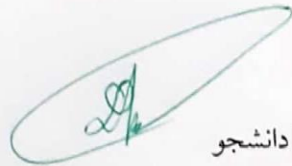
Summer 2020

Thesis No: 1196

اظهارنامه وحق انتشار

اینجانب ابوذر شفقى متعهد مى شوم موارد مذکور در این پایان نامه حاصل فعالیت های پژوهشی خود بوده و مسئولیت صحت داده ها و اطلاعات گزارش شده در این پایان نامه را به عهده مى گیرم. تمامی حقوق مادی و معنوی این پایان نامه متعلق به دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان بوده و هرگونه استفاده تنها با کسب اجازه ممکن خواهد بود.

استناد به مطالب و نتایج این پایان نامه در صورتیکه به نحو مناسبی ارجاع داده شود، بلامانع است.



امضا دانشجو

۱۳۹۹/۶/۱۱

تاریخ

PharmD Thesis کرمان داروسازی

خلاصه

مقدمه: طیف اختلالات اوتیسم (ASDs) یک اختلال پیچیده رفتاری است که در اثر عوامل ژنتیکی و محیطی خطرناک، مانند قرار گرفتن در معرض والپروئیک اسید (VPA) در طول مدت بارداری ایجاد می‌شود. از سوی دیگر نشان داده شده‌است که دستکاری‌های پس از تولد بر رشد مغزی، عصب‌شناسی قشری و فعالیت هیپوفیزی-آدرنال اثرگذار است. در روش EH (Early Handling) نوزادان بطور روزانه در بازه زمانی تولد تا موعد از شیرگیری از مادر خود جدا شده، مورد لمس فیزیکی واقع شده و در معرض محیط جدید قرار داده می‌شوند. در مطالعه حاضر تاثیر EH بر رفتارهای شبه‌اضطرابی در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی در معرض قرارگرفته با والپروئیک اسید بصورت پیش و پس از زایش، مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: موش‌های بزرگ آزمایشگاهی باردار نژاد ویستار به طور تصادفی به ۲ گروه Pre- و Post-Natal تقسیم شدند؛ گروه Pre-Natal، به صورت تصادفی به سه زیرگروه تقسیم شدند که یک زیرگروه سالین (۱ ml/kg, i.p.) و زیرگروه دیگر والپروئیک اسید (۶۰۰ mg/kg, i.p.) در روز ۱۲/۵ بارداری بصورت داخل صفاقی دریافت کرد و زیرگروه سوم علاوه بر دریافت VPA، در روزهای ۱ تا ۲۱ نوزادی مورد EH قرار گرفتند. گروه Post-Natal نیز همانند گروه قبل به سه زیرگروه تصادفی تقسیم شدند. که زیرگروه اول سالین (۱ ml/kg, i.p.) و زیرگروه دوم والپروئیک اسید (۶۰۰ mg/kg, i.p.) را در روز دوم تا چهارم نوزادی دریافت کردند. زیرگروه سوم علاوه بر دریافت VPA، در روزهای ۱ تا ۲۱ نوزادی مورد EH قرار گرفتند. جهت بررسی رفتارهای شبه‌اضطرابی از آزمون‌های Elevated Plus (EPM) Maze و (OFT) Open Field Test استفاده شد. آزمون‌های رفتاری در نوزادان در روز ۳۰ و ۳۱ پس از تولد انجام شد.

^۱ Autism Spectrum Disorders^۲ Valproic Acid

نتایج: نتایج نشان داد که تزریق داخل صفاقی والپروئیک اسید (۶۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) در زمان بارداری باعث کاهش OAT (Open Arm Entries) % در جنس نر به صورت معنی دار ($p < 0.01$) و ماده به صورت غیرمعنی دار ($p > 0.05$) می شود که نشان دهنده بروز رفتارهای شبه اضطرابی است، اما تغییر قابل ملاحظه ای در میزان پارامترهای رفتارهای شبه اضطرابی هنگام تزریق داخل صفاقی والپروئیک اسید (۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) در زمان نوزادی مشاهده نشد ($p > 0.05$). اعمال Early Handling در موش های بزرگ آزمایشگاهی نر و ماده دریافت کننده والپروئیک اسید پیش از زایمان، میزان بروز رفتارهای شبه اضطرابی را به طور معنی داری کاهش داد ($p < 0.05$). اعمال EH در موش های ماده دریافت کننده والپروئیک اسید پس از زایمان، باعث افزایش بروز رفتارهای شبه اضطرابی شد ($p < 0.01$). نتیجه گیری: از یافته های حاصل از این مطالعه می توان نتیجه گرفت که تزریق والپروئیک اسید در زمان بارداری منجر به بروز رفتارهای شبه اضطرابی در نوزادان نر می شود که EH می تواند تا حدی سبب بهبود این رفتارها شود. تزریق VPA در روز دوم تا چهارم نوزادی نتوانست تغییر قابل ملاحظه ای بر رفتار شبه اضطرابی ایجاد کند. انجام مطالعات رفتاری بیشتر با استفاده از سایر دستگاه های بررسی رفتارهای شبه اضطرابی و تعیین مکانیسم های درگیر در این رفتارها لازم است صورت پذیرد.

کلمات کلیدی: اوتیسم؛ دستکاری اولیه؛ اسید والپروئیک؛ رفتار شبه اضطرابی؛ موش بزرگ آزمایشگاهی

Abstract

Introduction: Autism spectrum disorders (ASDs) is a complex, behaviorally defined disorder of the immature brain as a result of genetic and environmental risk factors, such as prenatal exposure to valproic acid (VPA). This syndrome is known for its high prevalence. On the other hand, postoperative manipulations have been shown to affect brain development, cortical neuroscience, and pituitary-adrenal activity. In early handling procedure, pups are removed from their mother on a daily basis from birth to lactation, are physically touched, and are exposed to the new environment. In the present study, the effect of EH on anxiety-like behaviors in rats exposed pre- and post-natally to valproic acid, was investigated.

Methods: Pregnant Wistar rats were randomly separated into 2 groups, which are pre- and post-natal groups. The pre-natal group was randomly divided into three subgroups: one subgroup received saline (1 ml/kg, *i.p.*) and the other subgroup received valproic acid (600 mg/kg, *i.p.*) intraperitoneally on 12.5 days of gestation, and the third subgroup, in addition to receiving VPA, infants underwent EH on days 1 to 21. The post-natal group, like the previous group, was divided into three random subgroups. The first subgroup received saline (1 ml/kg, *i.p.*) and the second subgroup received valproic acid (400 mg/kg, *i.p.*) on the second to fourth day of infancy. In addition to receiving VPA, the third subgroup underwent EH on infants between 1 and 21 days of age. Elevated plus maze and open field tests were used to investigate anxiety-like behaviors. Behavioral tests in infants were performed on 30 and 31 days after birth.

Results: The results showed that intraperitoneal injection of valproic acid (600 mg/kg) during pregnancy significantly reduced OAT% in males ($p < 0.01$) and females in a non-meaningful manner ($p > 0.05$). It may indicate that anxiety-like behaviors occur, but no significant change in the parameters of anxiety-like behaviors was observed during intraperitoneal injection of valproic acid (400 mg/kg) in infancy ($p > 0.05$). Applying Early Handling to Wistar male and female rats receiving prenatal valproic acid significantly reduced the incidence of anxiety-like behaviors ($p < 0.05$). Applying EH to rats receiving postnatally valproic acid increased the occurrence of anxiety-like behaviors ($p < 0.01$).

Conclusion: The findings of this study suggest that injections of valproic acid during pregnancy lead to anxiety-like behaviors in male infants, which EH can improve to some extent. VPA injections on the second to fourth day of infancy did not significantly change

the anxiety-like behavior. Further behavioral studies need to be performed using other devices to investigate anxiety-like behaviors and to determine the mechanisms involved in these behaviors.

Keywords: Autism; Early Handling; Valproic Acid; Anxiety-Like Behaviors; R

PharmD Thesis کرمان داروسازی دانشگاه

فهرست مطالب

صفحه

عنوان

I	خلاصه فارسی.....
III	خلاصه انگلیسی.....
V	فهرست مطالب.....
VIII	فهرست اشکال.....
X	فهرست جداول.....
XI	فهرست اختصارات.....

فصل اول: مقدمه

1-1- پیش گفتار و هدف.....**ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**

1-2-1- اوتیسم.....**ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**

1-2-1- طیف اختلالات اوتیسم (ASD).....**Error! Bookmark not defined.**

1-2-2- میزان شیوع اوتیسم.....**Error! Bookmark not defined.**

1-2-3- پاتوفیزیولوژی اوتیسم.....**Error! Bookmark not defined.**

1-2-4- ریسک فاکتورهای بروز ASD.....**Error! Bookmark not defined.**

1-2-5- مدل‌های حیوانی اوتیسم.....**Error! Bookmark not defined.**

1-5-2-1- مدل فعالیت سیستم ایمنی مادر (MIA).....**ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**

1-5-2-2- مدل‌های ژنتیکی.....**ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**

1-5-2-3- مدل القا اوتیسم با تجویز والپروئیک اسید.....**ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**

۶-۲-۱- والپرویک اسید..... Error! Bookmark not defined.

۱-۶-۲-۱ مکانیسم والپرویک اسید..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

۷-۲-۱- درمان‌های رایج اوتیسم..... Error! Bookmark not defined.

۳-۱- اضطراب..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

۱-۳-۱- الگوهای رفتاری سنجش اضطراب..... ۱۲.....

۴-۱- Early Handling..... ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

۱-۴-۱- جدایی نوزاد از مادر..... ۱۳.....

۲-۴-۱- تاثیر EH بر محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال (HPA)..... Error! Bookmark not defined.

۳-۴-۱- تاثیر EH بر رفتار لیس زدن..... ۱۴.....

۴-۴-۱- تاثیر EH بر ایستادن روی دوپای عقبی..... ۱۴.....

فصل دوم: مواد، دستگاه‌ها و روش‌ها

۱-۲- مواد شیمیایی و وسایل یکبارمصرف..... ۱۶.....

۲-۲- تجهیزات و دستگاه‌ها..... ۱۶.....

۳-۲- گروه‌های مورد مطالعه..... ۱۷.....

۱-۳-۲- تزریق داروها و گروه‌های مورد آزمایش..... ۱۷.....

۴-۲- روش‌ها و آزمایش‌ها..... ۱۸.....

۱-۴-۲- مطالعات رفتاری..... ۱۸.....

۲-۴-۲- دستگاه ماز به علاوه مرتفع (EPM)..... ۱۹.....

۱-۲-۴-۲- آزمون رفتاری..... ۲۰.....

۲-۵-۲. آنالیز آماری..... ۲۳

۲-۶-۲. ملاحظات اخلاقی..... ۲۳

فصل سوم: نتایج

۳-۱-۲. آنالیز داده‌های رفتاری..... ۲۵

۳-۱-۱-۱. اثر تجویز والپروئیک اسید در بارداری و نوزادی به تنهایی و یا همراه با EH در دوران نوزادی بر رفتار شبه‌اضطرابی در

دستگاه EPM..... ۲۵

۳-۱-۱-۳. اثر تجویز والپروئیک اسید در بارداری و نوزادی به تنهایی و یا همراه با EH در دوران نوزادی بر OAT % به عنوان شاخص رفتار

شبه‌اضطرابی در دستگاه EPM..... ۲۵

۳-۱-۱-۲. اثر تجویز والپروئیک اسید در بارداری و نوزادی به تنهایی و یا همراه با EH در دوران نوزادی بر OAE % به عنوان شاخص رفتار

شبه‌اضطرابی در دستگاه EPM..... ۲۶

۳-۱-۱-۳. اثر تجویز والپروئیک اسید در بارداری و نوزادی به تنهایی و یا همراه با EH در دوران نوزادی بر فعالیت حرکتی در دستگاه

EPM..... ۲۷

۳-۱-۲. اثر تجویز والپروئیک اسید در بارداری و نوزادی به تنهایی و یا همراه با EH در دوران نوزادی بر رفتار شبه‌اضطرابی در

دستگاه OFT..... ۲۸

۳-۱-۲-۱. اثر تجویز والپروئیک اسید در بارداری و نوزادی به تنهایی و یا همراه با EH در دوران نوزادی بر کل مسافت طی شده (Total

Distance Moved, TDM) در دستگاه OFT..... ۲۸

۳-۱-۲-۲. اثر تجویز والپروئیک اسید در بارداری و نوزادی به تنهایی و یا همراه با EH در دوران نوزادی بر سرعت (Velocity) در دستگاه

OFT..... ۲۹

۳-۱-۲-۳. اثر تجویز والپروئیک اسید در بارداری و نوزادی به تنهایی و یا همراه با EH در دوران نوزادی بر مدت زمان طی شده در مرکز

(Time Spent In Center Zone) به عنوان شاخص رفتار شبه‌اضطرابی در دستگاه OFT..... ۳۰

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری

منابع

فهرست اشکال

شکل ۱-۱- ساختار A) والپروات سدیم B) ساختار والپروئیک اسید.. **ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.**

شکل ۳-۲- اثر تجویز والپروئیک اسید در بارداری و نوزادی به تنهایی و یا همراه با EH در دوران نوزادی بر OAE % به عنوان خلاصه انگلیسی

شاخص رفتار شبه اضطرابی در دستگاه EPM در حیوانات نر و ماده یک ماهه. در هر گروه ۷ سر حیوان مطالعه شد. هر ستون

نشان دهنده میانگین \pm خطای استاندارد مربوط به OAE % است. ۲۷

شکل ۳-۳- اثر تجویز والپروئیک اسید در بارداری و نوزادی به تنهایی و یا همراه با EH در دوران نوزادی بر فعالیت حرکتی در

دستگاه EPM در حیوانات نر و ماده یک ماهه. در هر گروه ۷ سر حیوان مطالعه شد. هر ستون نشان دهنده میانگین \pm خطای استاندارد

مربوط به فعالیت حرکتی است. ۲۸

شکل ۳-۴- اثر تجویز والپروئیک اسید در بارداری و نوزادی به تنهایی و یا همراه با EH در دوران نوزادی بر TDM در دستگاه OFT

در حیوانات نر و ماده یک ماهه. در هر گروه ۷ سر حیوان مطالعه شد. هر ستون نشان دهنده میانگین \pm خطای استاندارد مربوط به TDM

است. ۲۹

شکل ۳-۵- اثر تجویز والپروئیک اسید در بارداری و نوزادی به تنهایی و یا همراه با EH در دوران نوزادی بر Velocity در دستگاه

OFT در حیوانات نر و ماده یک ماهه. در هر گروه ۷ سر حیوان مطالعه شد. هر ستون نشان دهنده میانگین \pm خطای استاندارد مربوط به

Velocity است. ۳۰

شکل ۳-۶- اثر تجویز والپروئیک اسید در بارداری و نوزادی به تنهایی و یا همراه با EH در دوران نوزادی بر مدت زمان طی شده در

مرکز به عنوان شاخص رفتار شبه اضطرابی در دستگاه OFT در حیوانات نر و ماده یک ماهه. در هر گروه ۷ سر حیوان مطالعه شد. هر

ستون نشان دهنده میانگین \pm خطای استاندارد مربوط به مدت زمان طی شده در مرکز است. ۳۱

شکل ۳-۷- اثر تجویز والپروئیک اسید در بارداری و نوزادی به تنهایی و یا همراه با EH در دوران نوزادی بر Rearing به عنوان

شاخص رفتار شبه اضطرابی در دستگاه OFT در حیوانات نر و ماده یک ماهه. در هر گروه ۷ سر حیوان مطالعه شد. هر ستون

نشان دهنده میانگین \pm خطای استاندارد مربوط به Rearing است. ۳۲

شکل ۳-۸- اثر تجویز والپروئیک اسید در بارداری و نوزادی به تنهایی و یا همراه با EH در دوران نوزادی بر Grooming به عنوان

شاخص رفتار شبه اضطرابی در دستگاه OFT در حیوانات نر و ماده یک ماهه. در هر گروه ۷ سر حیوان مطالعه شد. هر ستون

نشان دهنده میانگین \pm خطای استاندارد مربوط به Grooming است. ۳۳

فهرست جداول

جدول ۱-۲- مواد شیمیایی و وسایل یکبار مصرف..... ۱۶

جدول ۲-۲- تجهیزات و دستگاه‌های مورد استفاده..... ۱۶

فهرست اختصارات

ACTH	Adrenocorticotrophic Hormone
ASDs	Autism Spectrum Disorders
CRF	Corticotropin-Releasing Factor
CRH	Corticotropin-Releasing Hormone
ED	Embryonic Day
EH	Early Handling
EPM	Elevated Plus Maze
FDA	Food & Drug Administration
GABA	Gamma-Aminobutyric Acid
HPA	Hypothalamic-Pituitary-Adrenal
<i>i.p.</i>	Intraperitoneal
mg	Miligram
MIA	Maternal Immune Activation
ml	Mililiter
MS	Maternal Seperation
OFT	Open Field Test
PND	Postnatal Day
<i>s.c.</i>	Subcutaneous
SSRI	Selective Serotonin Reuptake Inhibitor
VPA	Valproic Acid

منابع

- [1] Rapin I, Tuchman RF. Autism: definition, neurobiology, screening, diagnosis. **Pediatr Clin N Am** ۲۰۰۸;۵۵:۱۱۲۹-۴۶.
- [2] Schneider T, Przewlocki R. Behavioral alterations in rats prenatally exposed to valproic acid: animal model of autism. **Neuropsychopharmacol** 2005;30:80.
- [3] Kanner L. Autistic disturbances of affective contact. **Acta Paedopsychiatr** 1968;35:100-36.
- [4] Miles JH. Autism spectrum disorders-a genetics review. **Genet Med** 2011;13:278-94.
- [5] Herbert MR. Contributions of the environment and environmentally vulnerable physiology to autism spectrum disorders. **Curr Opin Neurol** 2010;23:103-10.
- [6] Bromley R, Mawer G, Clayton-Smith J, Baker G, Liverpool, Group MN. Autism spectrum disorders following in utero exposure to antiepileptic drugs. **Neurology** 2008;71:1923-4.
- [7] Kim KC, Kim P, Go HS, Choi CS, Yang SI, Cheong JH, *et al.* The critical period of valproate exposure to induce autistic symptoms in Sprague-Dawley rats. **Toxicol Lett** 2011;201:137-42.
- [8] Sonoda T, Ohdo S, Ohba Ki, Okishima T, Hayakawa K. Teratogenic effects of sodium valproate in the Jcl: ICR mouse fetus. **Pediatr Int** 1990;32:502-7.
- [9] Kim KC, Kim P, Go HS, Choi CS, Park JH, Kim HJ, *et al.* Male-specific alteration in excitatory post-synaptic development and social interaction in pre-natal valproic acid exposure model of autism spectrum disorder. **J Neurochem** 2013;124:832-43.
- [10] Matson JL, Nebel-Schwalm M, Matson ML. A review of methodological issues in the differential diagnosis of autism spectrum disorders in children. **Res Autism Spectr Disord** 2007;1:38-54.
- [11] Rapin I, Tuchman RF. What is new in autism? **Curr Opin Neurol** 2008;21:143-9.
- [12] Dufour-Rainfray D, Vourc'h P, Le Guisquet A-M, Garreau L, Ternant D, Bodard S, *et al.* Behavior and serotonergic disorders in rats exposed prenatally to valproate: a model for autism. **Neurosci Lett** 2010;470:55-9.
- [13] Narita M, Oyabu A, Imura Y, Kamada N, Yokoyama T, Tano K, *et al.* Nonexploratory movement and behavioral alterations in a thalidomide or valproic acid-induced autism model rat. **Neurosci Res** 2010;66:2-6.
- [14] Landa RJ. Diagnosis of autism spectrum disorders in the first 3 years of life. **Nat Rev Neurol** 2008;4:138.
- [15] Silvestrin RB, Bambini-Junior V, Galland F, Bobermim LD, Quincozes-Santos A, Abib RT, *et al.* Animal model of autism induced by prenatal exposure to valproate: altered glutamate metabolism in the hippocampus. **Brain Res** 2013;1495:52-60.
- [16] White SW, Oswald D, Ollendick T, Scahill L. Anxiety in children and adolescents with autism spectrum disorders. **Clin Psychol Rev** 2009;29:216-29.
- [17] Williams DL, Goldstein G, Minshew NJ. The profile of memory function in children with autism. **Neuropsychology** 2006;۲۰:۲۱.
- [18] Muhle R, Trentacoste SV, Rapin I. The genetics of autism. **Pediatrics** 2004;113:e472-e86.
- [19] Bambini-Junior V, Zanatta G, Nunes GDF, de Melo GM, Michels M, Fontes-Dutra M, *et al.* Resveratrol prevents social deficits in animal model of autism induced by valproic acid. **Neurosci Lett** 2014;583:176-81.
- [20] Carter CS. Sex differences in oxytocin and vasopressin: implications for autism spectrum disorders? **Behav Brain Res** 2007;176:170-86.
- [21] Choi CS, Gonzales EL, Kim KC, Yang SM, Kim J-W, Mabunga DF, *et al.* The transgenerational inheritance of autism-like phenotypes in mice exposed to valproic acid during pregnancy. **Sci Rep** 2016;6:36250.
- [22] Bertrand J, Mars A, Boyle C, Bove F, Yeargin-Allsopp M, Decoufle P. Prevalence of autism in a United States population: the Brick Township, New Jersey, investigation. **Pediatrics** 2001;108:1155-61.

- [23] Theoharides TC, Kempuraj D, Redwood L. Autism: an emerging 'neuroimmune disorder' in search of therapy. **Expert Opin Pharmacother** 2009;10:2127-43.
- [24] Chevallier C, Parish-Morris J, Tonge N, Le L, Miller J, Schultz RT. Susceptibility to the audience effect explains performance gap between children with and without autism in a theory of mind task. **J Exp Psychol Gen** 2014;143:972.
- [25] Fombonne E. The prevalence of autism. **JAMA** 2003;289:87-9.
- [26] Maenner MJ, Shaw KA, Baio J. Prevalence of autism spectrum disorder among children aged 8 years—autism and developmental disabilities monitoring network, 11 sites, United States, 2016. **MMWR Surveill Summ** 2020;69:1.
- [27] Mathys JB. Beyond Parental Report: Findings from the Rapid-ABC, A New 4-Minute Interactive Autism. **Gatech** 2013.
- [28] Weiss LA, Arking DE, Hopkins GDPoJ, Consortium tA. A genome-wide linkage and association scan reveals novel loci for autism. **Nature** 2009;461:802.
- [29] Kanner L. Autistic disturbances of affective contact. **Childs Nerv Syst** 1943;2:217-50.
- [30] Ronald A, Hoekstra RA. Autism spectrum disorders and autistic traits: a decade of new twin studies. **Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet** 2011;156:255-74.
- [31] Folstein SE, Rosen-Sheidley B. Genetics of autism: complex aetiology for a heterogeneous disorder. **Nat Rev Genet.** 2001;2:943.
- [32] Hallmayer J, Cleveland S, Torres A, Phillips J, Cohen B, Torigoe T, *et al.* Genetic heritability and shared environmental factors among twin pairs with autism. **Arch Gen Psychiatry** 2011;68:1095-102.
- [33] Deth R, Muratore C, Benzecry J, Power-Charnitsky V-A, Waly M. How environmental and genetic factors combine to cause autism: A redox/methylation hypothesis. **Neurotoxicology** 2008;29:190-201.
- [34] Perera F, Herbstman J. Prenatal environmental exposures, epigenetics, and disease. **Reprod Toxicol** 2011;31:73-363.
- [35] Bollati V, Baccarelli A. Environmental epigenetics. **Heredity** 2010;105:105.
- [36] Sandhu KS. Systems properties of proteins encoded by imprinted genes. **Epigenetics** 2010;5:627-36.
- [37] Foley DL, Craig JM, Morley R, Olsson CJ, Dwyer T, Smith K, *et al.* Prospects for epigenetic epidemiology. **Am J Epidemiol** 2009;169:389-400.
- [38] Glasson EJ, Bower C, Petterson B, de Klerk N, Chaney G, Hallmayer JF. Perinatal factors and the development of autism: a population study. **Arch Gen Psychiatry** 2004;61:618-27.
- [39] Gardener H, Spiegelman D, Buka SL. Prenatal risk factors for autism: comprehensive meta-analysis. **Brit J Psychiat** 2009;195:7-14.
- [40] Lee S-M, Kim B-K, Kim T-W, Ji E-S, Choi H-H. Music application alleviates short-term memory impairments through increasing cell proliferation in the hippocampus of valproic acid-induced autistic rat pups. **J Exerc Rehabil** 2016;12:148.
- [41] Prandota J. Autism spectrum disorders may be due to cerebral toxoplasmosis associated with chronic neuroinflammation causing persistent hypercytokinemia that resulted in an increased lipid peroxidation, oxidative stress, and depressed metabolism of endogenous and exogenous substances. **Res Autism Spectr Disord** 2010;4:119-55.
- [42] Maple AM. An analysis of nicotine exacerbation of reductions in PPI in a rodent model of schizophrenia. **ETSU** 2007;21057:7-11.
- [43] Iwata K, Matsuzaki H, Takei N, Manabe T, Mori N. Animal models of autism: an epigenetic and environmental viewpoint. **J Cent Nerv Syst Dis** 2010;2:JCNSD. S6188.
- [44] Atladóttir HÓ, Thorsen P, Østergaard L, Schendel DE, Lemcke S, Abdallah M, *et al.* Maternal infection requiring hospitalization during pregnancy and autism spectrum disorders. **J Autism Dev Disord** 2010;40:1423-30.
- [45] Miller V, Zhu Y, Bucher C, McGinnis W, Ryan L, Siegel A, *et al.* Gestational flu exposure induces changes in neurochemicals, affiliative hormones and brainstem inflammation, in addition to autism-like behaviors in mice. **Brain Behav Immun** 2013;33:153-63.
- [46] Chahrour M, Zoghbi HY. The story of Rett syndrome: from clinic to neurobiology. **Neuron** 2007;56:422-37.
- [47] Baronio D, Castro K, Gonchoroski T, de Melo GM, Nunes GDF, Bambini-Junior V, *et al.* Effects of an H3R antagonist on the animal model of autism induced by prenatal exposure to valproic acid. **PLoS One** 2015;10:e0116363.

- [48] Hsiao E, Bregere C, Malkova N, Patterson P. Modeling features of autism in rodents. **ASD**. 1st ed. New York: Oxford University Press, 2011:935-62.
- [49] Schneider T, Roman A, Basta-Kaim A, Kubera M, Budziszewska B, Schneider K, *et al*. Gender-specific behavioral and immunological alterations in an animal model of autism induced by prenatal exposure to valproic acid. **Psychoneuroendocrinology** 2008;33:728-40.
- [50] Yizhar O, Fenno LE, Prigge M, Schneider F, Davidson TJ, O'shea DJ, *et al*. Neocortical excitation/inhibition balance in information processing and social dysfunction. **Nature** 2011;477:171.
- [51] Yochum CL, Dowling P, Reuhl KR, Wagner GC, Ming X. VPA-induced apoptosis and behavioral deficits in neonatal mice. **Brain Res** 2008;1203:126-32.
- [52] Davis R, Peters DH, McTavish D. Valproic acid. A reappraisal of its pharmacological properties and clinical efficacy in epilepsy. **Drugs** 1994;47:332-72.
- [53] Ornoy A. Valproic acid in pregnancy: how much are we endangering the embryo and fetus? **Reprod Toxicol** 2009;28:1-10.
- [54] Rogawski MA, Porter RJ. Antiepileptic drugs: pharmacological mechanisms and clinical efficacy with consideration of promising developmental stage compounds. **Pharmacol Rev** 1990;42:223-86.
- [55] Hassanzadeh E, Hajiaghaee R, Akhondzadeh S. Systematic Review on Effect of Ginkgo biloba in the Treatment of Autism. **J Med Plants** 2012;2:1-15.
- [56] Mahatmya D, Zobel A, Valdovinos MG. Treatment approaches for self-injurious behavior in individuals with autism: Behavioral and pharmacological methods. **JEIBI** 2008;5:106.
- [57] Klinnert MD. Psychosocial influence on asthma among inner-city children. **Pediatr Pulmonol** 1997;24:234-6.
- [58] Saki K. Autism: Synthetic-and plant-derived control and treatment. **IJGP** 2018;12.
- [59] Buitelaar JK, Willemsen-Swinkels SH. Autism. **Pediatr Drugs** 2000;2:67-81.
- [60] Gleberzon BJ, Rosenberg-Gleberzon AL. On autism: Its prevalence, diagnosis, causes, and treatment. **Top Clin Chiropr** 2001;8:42-58.
- [61] Malone RP, Cater J, Sheikh RM, Choudhury MS, Dejaney MA. Olanzapine versus haloperidol in children with autistic disorder: an open pilot study. **J Am Acad Child Psy** 2001;40:887-94.
- [62] Sadock B, Sadock V, Pedro Ruiz. **Comprehensive text book of psychiatry**. 9th ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2009;133-9.
- [63] Troost PW, Lahuis BE, Steenhuis M-P, Ketelaars CE, Buitelaar JK, van Engeland H, *et al*. Long-term effects of risperidone in children with autism spectrum disorders: a placebo discontinuation study. **J Am Acad Child Psy** 2005;44:1137-44.
- [64] Ghanizadeh A, Kianpoor M. Cessation of Risperidone-Induced Incontinency by Valproate in a Child with Pervasive Developmental Disorder. **Prim Psychiatry** 2008.
- [65] Koen N, Stein DJ. Pharmacotherapy of anxiety disorders: a critical review. **Dialogues Clin Neurosci** 2011;13:423.
- [66] Garner M, Möhler H, Stein DJ, Mueggler T, Baldwin DS. Research in anxiety disorders: from the bench to the bedside. **Eur Neuropsychopharm** 2009;19:381-90.
- [67] Walf AA, Frye CA. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. **Nat Protoc** 2007;2:322-8.
- [68] Gould TD, Dao DT, Kovacsics CE. The open field test. **Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice**. Berlin: Springer 2009:1-20.
- [69] Hogg S. A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. **Pharmacol Biochem Behav** 1996;54:21-30.
- [70] Rodgers R, Johnson N. Factor analysis of spatiotemporal and ethological measures in the murine elevated plus-maze test of anxiety. **Pharmacol Biochem Behav** 1995;52:297-303.
- [71] Braun AA, Skelton MR, Vorhees CV, Williams MT. Comparison of the elevated plus and elevated zero mazes in treated and untreated male Sprague-Dawley rats: effects of anxiolytic and anxiogenic agents. **Pharmacol Biochem Behav** 2011;97:406-15.
- [72] Levine S, Chevalier JA, Korchin SJ. The Effects of Early Shock and Handling on Later Avoidance Learning 1. **J Pers** 1956;24:475-93.

- [73] Frankola KA, Flora AL, Torres AK, Grissom EM, Overstreet S, Dohanich GP. Effects of early rearing conditions on cognitive performance in prepubescent male and female rats. **Neurobiol Learn Mem** 2010;94:91-9.
- [74] Plescia F, Marino RA, Navarra M, Gambino G, Brancato A, Sardo P, *et al.* Early handling effect on female rat spatial and non-spatial learning and memory. **Behav Processes** 2014;103:9-16.
- [75] Kalueff AV, Tuohimaa P. The grooming analysis algorithm discriminates between different levels of anxiety in rats: potential utility for neurobehavioural stress research. **J Neurosci Methods** 2005;143:169-77.
- [76] Sturman O, Germain P-L, Bohacek J. Exploratory rearing :a context-and stress-sensitive behavior recorded in the open-field test. **Stress** 2018;21:443-52.
- [77] Filgueiras GB, Carvalho-Netto EF, Estanislau C. Aversion in the elevated plus-maze: role of visual and tactile cues. **Behav Processes** 2014;107:106-11.
- [78] Zarrindast MR, Esfahani DE, Oryan S, Nasehi M, Nami MT. Effects of dopamine receptor agonist and antagonists on cholestasis-induced anxiolytic-like behaviors in rats. **Eur J Pharmacol** 2013;702:25-31.
- [79] Albani SH, Andrawis MM, Abella RJH, Fulghum JT, Vafamand N, Dumas TC. Behavior in the elevated plus maze is differentially affected by testing conditions in rats under and over three weeks of age. **Front Behav Neurosci** 2015;9:31.
- [80] Radyushkin K, Hammerschmidt K, Boretius S, Varoqueaux F, El-Kordi A, Ronnenberg A, *et al.* Neuroligin-3-deficient mice: model of a monogenic heritable form of autism with an olfactory deficit. **Genes Brain Behav** 2009;8:416-20.
- [81] Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. **Eur J Pharmacol** 2003;463:3-33.
- [82] Servadio M, Vanderschuren LJ, Trezza V. Modeling autism-relevant behavioral phenotypes in rats and mice: Do 'autistic' rodents exist? **Behav Pharmacol** 2015;26:522-40.
- [83] Malkova NV, Collin ZY, Hsiao EY, Moore MJ, Patterson PH. Maternal immune activation yields offspring displaying mouse versions of the three core symptoms of autism. **Brain Behav Immun** 2012;26:607-16.
- [84] McFarlane HG, Kusek G, Yang M, Phoenix J, Bolivar V, Crawley J. Autism-like behavioral phenotypes in BTBR T+ tf/J mice. **Genes Brain Behav** 2008;7:152-63.
- [85] Schneider T, Turczak J, Przewlocki R. Environmental enrichment reverses behavioral alterations in rats prenatally exposed to valproic acid: issues for a therapeutic approach in autism. **Neuropsychopharmacology** 2006;31:36-46.
- [86] Fillingim RB, Maixner W. Gender differences in the responses to noxious stimuli. **Pain forum**; 1995: Elsevier; 1995. p. 209-21.
- [87] Ferrandez M, la Fuente De M. Effects of age, sex and physical exercise on the phagocytic process of murine peritoneal macrophages. **Acta Physiol Scand** 1999;166:47-53.
- [88] Markram K, Rinaldi T, La Mendola D, Sandi C, Markram H. Abnormal fear conditioning and amygdala processing in an animal model of autism. **Neuropsychopharmacology** 2008;33:901-12.
- [89] Takahashi LK, Kalin NH. Early developmental and temporal characteristics of stress-induced secretion of pituitary-adrenal hormones in prenatally stressed rat pups. **Brain Res** 1991;558:75-8.
- [90] Militeri R, Bravaccio C, Falco C, Puglisi-Allegra S, Pascucci T, Fico C. Pain reactivity in children with autistic disorder. **J Headache Pain** 2000;1:53-6.
- [91] Pierce K, Courchesne E. Evidence for a cerebellar role in reduced exploration and stereotyped behavior in autism. **Biol Psychiatry** 2001;49:655-64.
- [92] Towbin KE, Pradella A, Gorrindo T, Pine DS, Leibenluft E. Autism spectrum traits in children with mood and anxiety disorders. **J Child Adolesc Psychopharmacol** 2005;15:452-64.
- [93] Corbett BA, Mendoza S, Abdullah M, Wegelin JA, Levine S. Cortisol circadian rhythms and response to stress in children with autism. **Psychoneuroendocrinology** 2006;31:59-68.
- [94] Ingram JL, Peckham SM, Tisdale B, Rodier PM. Prenatal exposure of rats to valproic acid reproduces the cerebellar anomalies associated with autism. **Neurotoxicol Teratol** 2000;22:319-24.
- [95] Reid G, Metivier R, Lin C-Y, Denger S, Ibberson D, Ivacevic T, *et al.* Multiple mechanisms induce transcriptional silencing of a subset of genes, including oestrogen receptor α , in response to deacetylase inhibition by valproic acid and trichostatin A. **Oncogene** 2005;24:4894-907.

- [96] Miranda RC, Toran-Allerand CD. Developmental expression of estrogen receptor mRNA in the rat cerebral cortex: a nonisotopic in situ hybridization histochemistry study. **Cereb Cortex** 1992;2:1-15.
- [97] Stein DG. Brain damage, sex hormones and recovery: a new role for progesterone and estrogen? **Trends Neurosci** 2001;24:386-91.
- [98] Meaney MJ, Mitchell JB, Aitken DH, Bhatnagar S, Bodnoff SR, Iny LJ, *et al.* The effects of neonatal handling on the development of the adrenocortical response to stress: implications for neuropathology and cognitive deficits in later life. **Psychoneuroendocrinology** 1991;16:85-103.
- [99] Pryce CR, Bettschen D, Nanz-Bahr NI, Feldon J. Comparison of the effects of early handling and early deprivation on conditioned stimulus, context, and spatial learning and memory in adult rats. **Behav Neurosci** 2003;117:883.
- [100] Todeschin AS, Winkelmann-Duarte EC, Jacob MHV, Aranda BCC, Jacobs S, Fernandes MC, *et al.* Effects of neonatal handling on social memory, social interaction, and number of oxytocin and vasopressin neurons in rats. **Horm Behav** 2009;56:93-100.
- [101] Tang AC, Reeb BC, Romeo RD, McEwen BS. Modification of social memory, hypothalamic-pituitary-adrenal axis, and brain asymmetry by neonatal novelty exposure. **J Neurosci** 2003;23:8254-60.
- [102] Trujillo V, Durando PE, Suárez MM. Maternal separation in early life modifies anxious behavior and Fos and glucocorticoid receptor expression in limbic neurons after chronic stress in rats: effects of tianeptine. **Stress** 2016;19:91-103.
- [103] Wang Q, Li M, Du W, Shao F, Wang W. The different effects of maternal separation on spatial learning and reversal learning in rats. **Behav Brain Res** 2015;280:16-23.
- [104] Jin S, Zhao Y, Jiang Y, Wang Y, Li C, Zhang D, *et al.* Anxiety-like behaviour assessments of adolescent rats after repeated maternal separation during early life. **Neuroreport** 2018;29:643.
- [105] Lesuis SL, Maurin H, Borghgraef P, Lucassen PJ, Van Leuven F, Krugers HJ. Positive and negative early life experiences differentially modulate long term survival and amyloid protein levels in a mouse model of Alzheimer's disease. **Oncotarget** 2016;7:39118.
- [106] Wagner GC, Reuhl KR, Cheh M, McRae P, Halladay AK. A new neurobehavioral model of autism in mice: pre-and postnatal exposure to sodium valproate. **J Autism Dev Disord** 2006;36:779-93.
- [107] Mony TJ, Lee JW, Dreyfus C, DiCicco-Bloom E, Lee HJ. Valproic acid exposure during early postnatal gliogenesis leads to autistic-like behaviors in rats. **Clin Psychopharmacol Neurosci** 2016;14:338.
- [108] Arndt TL, Stodgell CJ, Rodier PM. The teratology of autism. **Int J Dev Neurosci** 2005;23:189-99.



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان
دانشکده داروسازی

بایان نامه آقای ابوذر شفق دانشجوی داروسازی ورودی ۹۳ به شماره ۱۱۹۶
نحت عنوان:

بررسی اثر Early Handling بر رفتارهای شبه اضطرابی در موش های بزرگ آزمایشگاهی در معرض قرار گرفته با

والپرویک اسید به صورت پیش و پس از زلزلش

استاد (اساتید) راهنما:

دکتر آزاده امین زاده

دکتر حمیده بشیری

استاد مشاور:

دکتر محمودرضا حیدری

هیئت محترم داوران:

۱- دکتر بهزاد بهنام

۲- دکتر سمیه کرمی مهاجری

در تاریخ ۹۹/۰۶/۱۱ مورد ارزیابی قرار گرفت و با نمره (با عدد) ۱۸٫۹۵
(با حروف) هجده و نه و یک دهم به تصویب رسید.

دکتر مصطفی پورنامداری
رئیس اداره پایان نامه

محمد رضا نخعی
کارشناس اداره پایان نامه



دکتر میتا مهربانی
معاون پژوهشی دانشکده